УДК 594.381:591.113

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКОВОГО СПЕКТРА ГЕМОЛИМФЫ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ГРУППЫ *LYMNAEA* LAMARK, 1799 (GASTROPODA, PULMONATA)

А. П. Стадниченко

(Астраханский технический институт рыбной промышленности и хозяйства)

Диагностировать виды группы *Lymnaea* Lamark, 1799, и прежде всего таксоны подрода *Radix*, в некоторых случаях очень сложно. С большими трудностями связана дифференцировка прудовиков ушкового (*Lymnaea auricularia* L.) и вытянутого (*L. peregra* Müll.). Особенно это касается определения видовой принадлежности молодых особей. Одни конхологические признаки *L. auricularia* и *L. peregra* в силу высокой степени их вариабельности не могут служить критерием установления видовой принадлежности моллюсков. К числу менее изменчивых признаков относятся анатомические особенности некоторых органов генеративной системы лимнеид: простаты, сперматеки, мешка пениса и препуциума,— подробно изученные у видов подрода *Radix* (Hubendick, 1951; Jackiewicz, 1954).

Для диагностики видов в последнее время наряду с изучением особенностей внешней морфологии и анатомии моллюсков все чаще используются определенные биохимические тесты, в т. ч. белковый спектр их гемолимфы. Электрофоретическому исследованию белков гемолимфы и тканей моллюсков посвящено небольшое количество работ (Baba, 1956; Wright, Ross, 1959, 1963, 1965, 1966; Tran, Rose, 1962; Targett, 1963; Osteux, Rose, Tran, 1966; Davis, Lindsay, 1967; Стадниченко, 1969, 1969а, 1970, 1970а, 1970б; Логвиненко, Кодолова, 1971). В четырех из них выясняется вопрос, может ли электрофоретическая картина белков служить бесспорным критерием для установления видовой принадлежности моллюсков. Райт и Росс (Wright, Ross, 1963) методом электрофореза на ацетате целлюлозы исследовали белки яиц некоторых видов рода *Bulinus* (семейство Planorbidae), которого нет в нашей фауне, и установили, что их состав является весьма стабильным признаком и его можно использовать для диагностики видов этого рода. Дальнейшими исследованиями было показано, что метод иммуноэлектрофореза антигенной структуры моллюсков позволяет установить различия на родовом и видовом уровнях, а электрофорез на акриламидном геле дает возможность дифференцировать виды одного рода (Tran, Rose, 1962; Osteux, Rose, Tran, 1966; Логвиненко, Кодолова, 1971).

Мы изучали белковый спектр гемолимфы у голарктических и палеоарктических видов моллюсков из группы *Lymnaea*, широко распространенных в континентальных водоемах СССР, и попытались установить, можно ли использовать этот показатель в качестве биохимического теста для диагностики видов в спорных случаях.

Материал и методика

Объектом исследования являлись прудовики озерный — *L. stagnalis* (L., 1758), ушковый (*L. auricularia*) и вытянутый (*L. peregra*) из водоемов западноукраинской Лесостепи (в пределах Львовской обл.). Сра-

внивали белковый спектр гемолимфы у взрослых особей. Высота раковины у исследованных нами *L. stagnalis* варьировала от 34 до 44, у *L. auricularia* — от 20 до 28 и у *L. peregra* — от 12 до 16 *мм.*

Гемолимфу получали по методике Таргетта (Targett, 1962) или по собственной методике (Стадниченко, 1969а) непосредственно перед исследованием (если анализ делали на следующий день, гемолимфу сохраняли в холодильнике при температуре не выше +2° С). На первом этапе работы перед нанесением на пластинку гемолимфу центрифугировали в течение 10—15 *мин.* (скорость центрифуги 3000 *об/мин*). В дальнейшем мы убедились в том, что при электрофоретическом исследовании плазмы и цельной гемолимфы получаются одинаковые фореграммы, что вполне закономерно, т. к. клеточные элементы (амебоциты) в гемолимфе моллюсков весьма немногочисленны (George, Ferguson, 1950): составляют всего 1—2% ее объема. В связи с этим естественно предположить, что сколько-нибудь существенно исказить электрофоретическую картину гемолимфы они не могут.

Белки разделяли на фракции методом электрофореза в агаровом геле (Илков, Николов, 1959). Электрофореграммы изучали на микрофотометре МФ-2 (Сухомлинов, Едкина, Яковенко, 1962). Полученные цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики (Деркач, 1963).

Учитывая методические указания В. И. Здуна (1961), после взятия гемолимфы животных обязательно обследовали на зараженность партенитами и личинками (метацеркариями) трематод. В настоящей работе приведены результаты сравнения электрофоретического спектра гемолимфы только свободных от инвазии моллюсков.

Результаты исследований

У всех исследованных видов белки гемолимфы разделялись на пять четко выраженных фракций (табл. 1). Идентифицировать их с белками сыворотки крови человека оказалось невозможно, поэтому мы обозначили белковые фракции римскими цифрами (I—V). У обследованных нами видов в отрицательном электрическом поле выявлены две белковые фракции: более подвижная (I) и менее подвижная (II). В положительном электрическом поле зарегистрированы три фракции: самая подвижная (V), менее подвижная (IV) и наименее подвижная (III). В степени подвижности отдельных белковых фракций гемолимфы у *L. stagnalis, L. auricularia* и *L. peregra* статистически достоверные различия не отмечены.

У изученных видов процентное содержание белковых фракций анодной зоны превышало таковое фракций катодной зоны (61,49 и 38,51; 74,04 и 25,96; 70,5 и 29,49% соответственно для *L. stagnalis, L. auricularia* и *L. peregra*). У всех обследованных видов удельный вес I фракции в 1,5—2,0 раза больше такового II фракции (электроотрицательные фракции). Удельный вес III фракции в 2—3 раза превосходит удельный вес IV и V фракций, вместе взятых (электроположительные фракции).

У исследованных видов в белковом спектре гемолимфы обнаружены и существенные различия. Мы попарно сравнили процентное содержание отдельных белковых фракций (табл. 2). У *L. stagnalis* и *L. peregra* обнаружены статистически достоверные различия в содержании I, II, III и V фракций. У *L. stagnalis* и *L. auricularia*, а также у *L. peregra* и *L. auricularie* различия выявлены в содержании I и III, а также III и IV белковых фракций (соответственно для названных пар видов).

Таблица 1

Процентное соотношение белковых фракций гемолимфы у моллюсков группы *Lymnaea*

Белковая фракция	M±m	min—max	σ	C
		L. stagnalis		
I	35,35±1,31	31,85—43,68	3,94	11,15
II	26,14±1,24	19,25—31,11	3,72	14,25
III	28,56±1,83	16,19—34,39	5,48	19,28
IV	7,93±1,51	3,97—19,05	4,52	56,90
V	2,04±0,63	0,59—6,66	1,89	92,65
		L. auricularia		
I	47,01±2,97	64,15—36,17	8,42	17,91
II	27,03±0,39	13,20—46,80	1,11	4,11
III	12,34±0,81	9,09—15,56	2,28	18,47
IV	8,95±0,74	4,68—12,12	2,11	23,58
V	2,17±0,24	1,53—2,63	0,71	32,71
		L. peregra		
I	47,32±1,93	36,11—56,86	5,79	12,24
II	23,19±1,11	18,62—28,70	3,33	14,35
III	12,02±1,18	10,78—19,18	3,36	27,96
IV	8,89±1,18	8,76—14,00	3,36	37,79
V	5,76±0,95	1,92—11,39	2,09	47,44

Таблица 2

Результаты биометрического сравнения процентного содержания белковых фракций гемолимфы у моллюсков группы *Lymnaea*

Моллюск	Белковая фракция				
	I	II	III	IV	V
L. stagnalis / *L. auricularia*	3,59* / 99,10	0,6 / 43,3	8,11 / 99,90	0,6 / 43,3	1,9 / 90,1
L. stagnalis / *L. peregra*	5,7 / 99,9	2,4 / 95,3	7,6 / 99,9	0,5 / 36,8	3,2 / 98,5
L. auricularia / *L. peregra*	0,09 / 7,7	0,09 / 7,7	3,3 / 98,7	0,05 / 7,7	3,6 / 99,1

* В числителе — показатель Стьюдента, в знаменателе — степень достоверности различий.

Проведенные исследования свидетельствуют о наличии значительных различий в белковом спектре гемолимфы у различных видов группы *Lymnaea*. Однако утверждать, что метод электрофореза в агаровом геле позволяет устанавливать различия на видовом уровне, на наш взгляд, преждевременно. Поэтому полученные данные мы рассматриваем как предварительные. Необходимо повторить исследования на большем материале, добытом из водоемов с различных континентов.

ЛИТЕРАТУРА

Деркач М. П. 1963. Елементи статистичної обробки результатів біологічного експерименту. Львів.

Здун В. И. 1961. Обследование моллюсков на зараженность личинками трематод. В сб.: «Методика изучения паразитологической ситуации и борьба с паразитозами сельскохозяйственных животных».

Илков А., Николов Т. 1959. Электрофорез растворимых белков в агаровом геле. Вопр. мед. химии, № 5.

Логвиненко Б. М., Кодолова О. П. 1971. О возможности дифференцировании моллюсков путем сравнения электрофореграмм миогенов. В сб.: «Моллюски. Пути, методы и итоги их изучения», в. 4. Л.

Стадниченко А. П. 1969. Изменчивость белкового спектра крови Lymnaea stagnalis (L., 1758) как результат инвазии личинками трематод. В сб.: «Вопросы паразитологии» (Тр. VI науч. конф. паразитологов УССР). К.

Ее же. 1969а. Половой диморфизм аминокислотного состава растворимых белков крови озерной живородки. Науч. докл. конф. Астрыбвтуза, т. 2. Астрахань.

Ее же. 1970. О возрастной изменчивости белкового состава крови Lymnaea stagnalis (L., 1758) (Gastropoda Pulmonata). Гидробиол. журн., т. VI, № 2.

Ее же. 1970а. О половой изменчивости белкового состава крови у Viviparus contectus (Gastropoda, Prosobranchia). Зоол. журн., т. XXXXIX, в. 3.

Ее же. 1970б. Изменение белкового спектра крови Viviparus contectus (Millet, 1813) (Gastropoda, Prosobranchia) при инвазии личиночными формами трематод. Паразитология, т. 4, в. 5.

Сухомлинов Б. Ф., Едкина В. Д., Яковенко А. Н. 1962. Электрофоретическая характеристика белков сыворотки крови и печени при воздействии ионизирующей радиации. В сб.: «Биологическое действие радиации». Львов.

Baba H. 1956. Study of mollusc's proteins. Bull. Japan. Sci. Fish., v. 22, № 7.

Davis G. M., Lindsay G. K. 1967. Disc electrophoresis analysis of molluscan individuals and populations. Malacologia, v. 5, № 2.

George W C., Ferguson I. H. 1950. The blood of gastropod molluscs. J. Morphol., v. 86.

Huberdick B. 1951. Recent Lymnaeidae, their varuation, morphology, taxonomy, nomenclature and distribution. Kungl. Sbenska Vetenscap. Handlingar, Fjarde serien, Bd. 3, № 1, Stocholm.

Jackiewicz M. 1954. Z badan anatomiczno-porownawczych nad nectorymi gatunkami z rodzaju Radix Montfort na terene Wielkopolski. Prace Kom. Biolog., t. 15, № 3, Poznan.

Osteux F., Rose G., Tran V. P. K. 1966. Application des techniques d'immunoelectrophoresis on agarose et electrophoresis en gel d'acrylamidae l'etude des mollusques (Planorbidae). Bull. Soc. Zool. France, t. 91, № 3.

Targett G. A. T. 1962. Absorption spectra of blood from intermediate and nonintermediate hosts of Schistosomes. J. Helminth., v. 43, № 2.

Idem. 1963. Electrophoresis of blood from intermediate and nonintermediate snail hosts of Schistosomes. Exptl. parasitol., v. 14, № 2.

Tran V. R. K., Rose F. 1962. Immuno-electrophoresis of antigen structure of molluscs to use it for solution of some moot points of taxonomy. Acad. Sci., v. 255, № 2.

Wright C. A., Ross G. S. 1959. Electrophoresis of snail blood. Transact. Royale Trop. Med., v. 53.

Idem. 1963. Electrophoretic studies of blood and egg proteins in Australorbis glabratus (Planorbidae). Ann. Trop. Medic. and Parasitol., v. 57, № 1.

Idem. 1965. Electrophoresis of egg's proteins of some Planorbodae. Бюлл. ВОЗ, т. 32, № 5.

Idem. 1966. Electrophoresis of egg's proteins of snails Bulinus africanus and B. forscalii, Там же, т. 35, № 5.

Поступила 15.IX. 1971 г.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF PROTEIN SPECTRUM OF HAEMOLYMPH OF CERTAIN SPECIES FROM GROUP *LYMNAEA* LAMARK, 1799 (GASTROPODA, PULMONATA)

A. P. Stadnichenko

(Technological Institute of Fish Industry and Fishery, Astrakhan)

Summary

Protein spectrum of haemolymph in *Lymnaea stagnalis*, L. *auricularia* and L. *peregra* was studied by means of electrophoresis in agar gel. Statistically trustworthy differences in percentage content of certain protein fractions were established between *L. stagnalis* and *L. auricularia, L. stagnalis* and *L. jeregra,* as well as between *L. auricularia* and *L. peregra.*